

日 本 国 特 許 庁
PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

1c841 U.S. PTO
09/631609
08/04/00

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application: 1 9 9 9 年 9 月 3 日

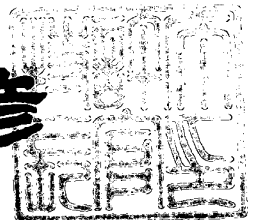
出 願 番 号
Application Number: 平成 1 1 年特許願第 2 5 0 2 1 3 号

出 願 人
Applicant (s): 横河電機株式会社

2 0 0 0 年 6 月 2 9 日

特 許 庁 長 官
Commissioner,
Patent Office

近 藤 隆 彦



出証番号 出証特 2 0 0 0 - 3 0 5 3 8 6 3

【書類名】 特許願

【整理番号】 A990099

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C12Q 1/68

【発明者】

 【住所又は居所】 東京都武蔵野市中町 2 丁目 9 番 3 2 号 横河電機株式会
社内

 【氏名】 田名網 健雄

【特許出願人】

 【識別番号】 000006507

 【氏名又は名称】 横河電機株式会社

 【代表者】 内田 勲

【手数料の表示】

 【予納台帳番号】 005326

 【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

 【物件名】 明細書 1

 【物件名】 図面 1

 【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 バイオチップ作製方法およびそれを用いたバイオチップ作製装置

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

DNA または RNA または蛋白のセルを基板面にアレイ状に作製するバイオチップ作製方法であって、

基板の下方から DNA または RNA または蛋白の入った溶液を付着させる工程と、

前記基板側と、基板に付着した溶液側からプラスとマイナスの電圧を印加する工程

のいずれか一方または両方の工程により DNA または RNA または蛋白のチップを作製するようにしたことを特徴とするバイオチップ作製方法。

【請求項 2】

DNA または RNA または蛋白のセルを基板面にアレイ状に作製するバイオチップ作製装置であって、

前記基板に下方から DNA または RNA または蛋白を付着させる手段と、

前記基板側と、基板に付着した溶液側からプラスとマイナスの電圧を印加する電圧印加手段

のいずれか一方または両方を備えたことを特徴とするバイオチップ作製装置。

【請求項 3】

前記溶液を付着させる手段は、ピンまたはピンアレイを用いて基板面に溶液を付着させるように構成されたことを特徴とする請求項 2 に記載のバイオチップ作製装置。

【請求項 4】

前記溶液を付着させる手段は、そのピン先を洗浄する際、および DNA または RNA または蛋白の入った溶液をピン先に付着させる際、基板面に溶液を付着させるのと同様に下方から接触させるかまたは逆に上方から接触させるかして洗浄液および溶液の付着を行うように構成されたことを特徴とする請求項 3 に記載の

バイオチップ作製装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、DNA、RNA、蛋白等のセルを基板上にアレイ状に作製するいわゆるバイオチップ作製方法および装置の改良に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

なお、ここでは、DNAチップに例をとって説明する。DNAチップは、一般的に $1 \sim 10 \text{ cm}^2$ の大きさで、この領域に数千～数十万種のDNAを整列したものである。DNAチップの作製方式としては、従来よりポリメラーゼの連鎖反応（PCR）などにより調製したcDNA断片をアレイヤーのピンを利用してスライドガラスやシリコン等の基板上に付着させる方法がよく知られている。

【0003】

この方法は図3の原理図に示すように、ピン1の先端部を洗浄液槽2の洗浄液に浸して洗浄した後、ピン1を移動させ次に溶液槽3のDNAの入った溶液中にピンを浸してピン先にDNAを付着させる。続いて、このピン1を移動させ、スライドガラス4にスタンプすることによりDNAチップを作製する。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、このような方法には次のような課題があった。

単に液をスライドガラス4上に付着させ、自然乾燥させただけであるため、図4に示すように長い分子が絡まったり、横方向に伸びてハイブリダイゼーションに必要な領域5を覆ってしまうということがある。そしてこの絡まったり、覆ってしまう現象は不安定であるということも問題の一つである。

【0005】

なお、ハイブリダイゼーションとは、一本鎖に変性された核酸が適当な条件下で相補的な塩基配列を含む別の一本鎖の核酸と配列に特異な水素結合を介してハイブリッドを形成することを利用した分析法としてよく知られている。具体的に

は、既知の配列を有する核酸をプローブとして用い、試料中にターゲットとなる相補的な配列がないかを調べる。この際に、プローブとターゲットにより形成されたハイブリッドに標識を付けることにより、試料中の相補的配列の検出および定量が可能である。

【 0 0 0 6 】

本発明の目的は、上記の課題を解決するもので、分子の絡まりが生ぜず、ハイブリダイゼーションに必要な領域を覆うこともないバイオチップを容易に作製することのできるバイオチップ作製方法およびそれを用いたバイオチップ作製装置を提供することにある。

【 0 0 0 7 】

【課題を解決するための手段】

このような目的を達成するために、本発明は、

DNA または RNA または蛋白のセルを基板面にアレイ状に作製するバイオチップ作製方法であって、

基板の下方から DNA または RNA または蛋白の入った溶液を付着させる工程と、

前記基板側と、基板に付着した溶液側からプラスとマイナスの電圧を印加する工程

のいずれか一方または両方の工程により DNA または RNA または蛋白のチップを作製するようにしたことを特徴とする。

【 0 0 0 8 】

このような方法により、基板に付着した分子の絡まりを防ぎ、基板から分子が垂下した状態のバイオチップを作成することができる。

【 0 0 0 9 】

【発明の実施の形態】

以下図面を用いて本発明を詳しく説明する。まず本発明の原理を説明する。図 1 (a) に示すように DNA の入った溶液が付着したピン 1 をスライドガラス 4 の下方からスタンプする。ピンを離すと、重力によって図 1 (b) に示すように液がスライドガラス 4 から垂れ下がる。液の形は安定化する。

【0 0 1 0】

次に、図 1 (b) に示すようにスライドガラス 4 側と対抗する側に電極 1 6, 1 7 を置き電圧を印加して、スライドガラス 4 側にマイナス、対向側にプラスの電荷を与える。DNA は常にマイナスに帯電しているため、DNA 電気泳動と同様に溶液中の DNA はプラス電極に向かって伸びる。

【0 0 1 1】

そのままの状態乾燥させることにより、図 1 (c) に示すように固定化され、DNA の絡まりや、ハイブリダイゼーション領域を覆うこともなく、DNA 分子が下方に伸びた（垂下した）形のチップが出来上がる。

【0 0 1 2】

図 2 は本発明にかかるチップ作製装置の一実施例を示す要部構成図である。枠 1 0 の天井部に洗浄液部 1 1、DNA の入った溶液部 1 2、スライドガラス 4 を保持した保持部 1 3 が配設されている。ピン 1 を支持するピン支持体 1 4 は、枠 1 0 の床部に設けられたステージ 1 5 に横方向移動自在に取り付けられている。ピン支持体 1 4 はピン 1 を適宜上下に移動させることができる。

【0 0 1 3】

なお、洗浄液部 1 1 および溶液部 1 2 には、それぞれの液が滴下しないような、例えばスポンジ状の媒体や、表面張力を利用した手段等を用いる。

【0 0 1 4】

スライドガラス 4 の上面およびスライドガラス 4 の下方には電極 1 7 と 1 6 がそれぞれ設けられており、この電極間には適宜電圧が印加されるように構成されている。

また、必要に応じて、スライドガラス 4 に付着した DNA 溶液を乾燥させるための乾燥手段（図示せず）もスライドガラス 4 の近傍に設けられている。

【0 0 1 5】

なお、ピン支持体 1 4 のステージ 1 5 上の移動やピン 1 の上下移動のための駆動・制御手段、電極への電圧印加手段、乾燥手段の駆動手段については周知の手段を用いて実現できる。なお、これら周知の手段については、ここでは説明を省略する。

【 0 0 1 6 】

このような構成における動作を説明する。ピン 1 を下方に下げてピン支持体 1 4 を洗浄液部 1 1 の直下に移動させる。ピン 1 を上げ、ピン先を洗浄液部 1 1 に突き刺し、洗浄する。次に、ピンを下げ、ピン支持体 1 4 を溶液部 1 2 の直下に移動し、そこでピン 1 を上げ溶液部 1 2 に接触させてピン先に溶液を付着させる。

【 0 0 1 7 】

ピン先に溶液を付着させた後、ピンを下げ、ピン支持体 1 4 をスライドガラス 4 の直下まで移動する。ピン 1 を押し上げてスライドガラス 4 の下面にスタンプする。スタンプ後、ピン先を液から離れるように下げる。

【 0 0 1 8 】

次に、電極 1 6, 1 7 に電圧を印加して DNA をプラス電極 1 6 方向伸ばす。その状態で乾燥手段を働かせ乾燥させる。DNA は図 1 (c) に示すような形でスライドガラス 4 に付着した状態となる。

【 0 0 1 9 】

なお、本発明は上記実施例に限定されるものではない。例えば、ピンは 1 本に限らず、複数のピンを配列したピンアレイであってもよい。

また、洗浄液部 1 1 や溶液部 1 2 は枠の天井部に配置するのではなく、枠 1 0 の床部に配置してもよい。あるいは従来と同様に洗浄槽や溶液槽（いずれも図示せず）を用いてもよい。このような場合には、倒立したピンを正転させて（下方に向けて）洗浄や溶液付着を行う必要がある。

【 0 0 2 0 】

また、倒立と帯電は必ずしも両方必要ではなく、片方のみでもよい。また、ピンによりスライドガラス面に DNA をスタンプしたが、印刷方式により DNA を付着させてもよい。

【 0 0 2 1 】

更にまた、電極に印加する電圧はプラス・マイナスを適宜切り替えるようにしてもよい。このような切り替えにより、DNA をほぐすことが可能である。

【 0 0 2 2 】

また、本発明はDNAだけを対象とするものでなく、RNAや蛋白についても対象とすることができる。

【0 0 2 3】

【発明の効果】

以上説明したように本発明によれば、基板に付着した分子の絡まりを防ぎ、基板から分子が垂下し、ハイブリダイゼーションに必要な領域を覆うこともない状態のバイオチップを容易に作成することができる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

本発明の原理説明図である。

【図 2】

本発明に係る装置の一実施例を示す構成図である。

【図 3】

従来のチップ作成方法の原理を説明するための図である。

【図 4】

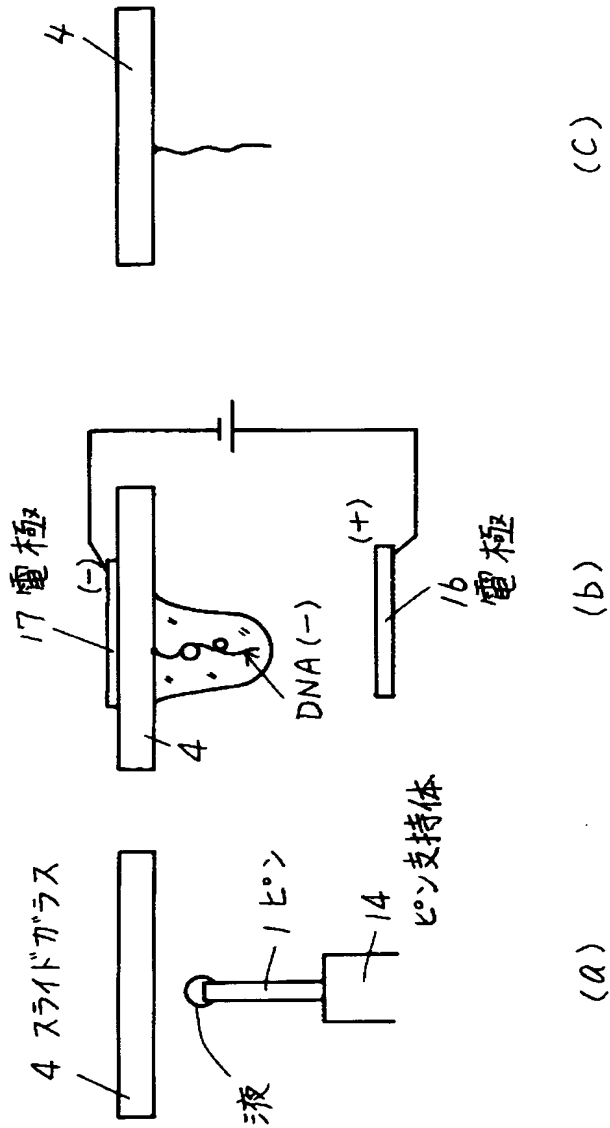
基板上の分子の絡まり等を説明するための図である。

【符号の説明】

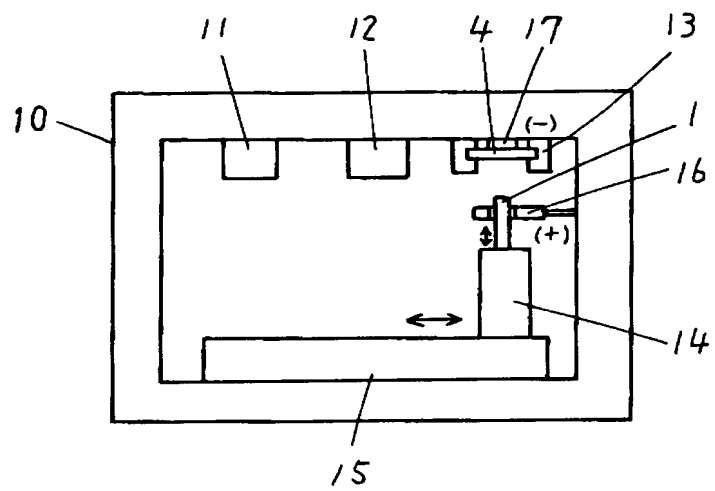
- 1 ピン
- 2 基板
- 3 セル
- 1 1 洗浄液部
- 1 2 溶液部
- 1 3 保持部
- 1 4 ピン支持体
- 1 5 ステージ
- 1 6, 1 7 電極

【書類名】 図面

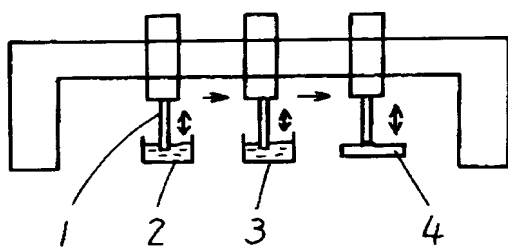
【図 1】



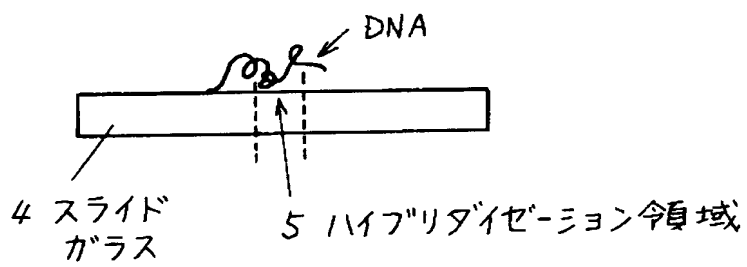
【図 2】



【図 3】



【図 4】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 分子の絡まりが生ぜず、ハイブリダイゼーションに必要な領域を覆うこともないバイオチップを作製する。

【解決手段】 DNAまたはRNAまたは蛋白のセルを基板面にアレイ状に作製するバイオチップ作製方法であって、基板の下方からDNAまたはRNAまたは蛋白の入った溶液を付着させる工程と、前記基板側と、基板に付着した溶液側からプラスとマイナスの電圧を印加する工程のいずれか一方または両方の工程によりDNAまたはRNAまたは蛋白のチップを作製する。

認定・付加情報

特許出願の番号	平成 1 1 年 特許願 第 2 5 0 2 1 3 号
受付番号	5 9 9 0 0 8 5 9 3 1 0
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0 0 9 4
作成日	平成 1 1 年 9 月 9 日

<認定情報・付加情報>

【提出日】	平成11年 9月 3日
-------	-------------

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [0 0 0 0 0 6 5 0 7]

1. 変更年月日 1 9 9 0 年 8 月 1 0 日

[変更理由] 新規登録

住 所 東京都武蔵野市中町 2 丁目 9 番 3 2 号

氏 名 横河電機株式会社